

Assessment of the Level of Contamination with Aflatoxin B1 in Animal Feed in the Northeast of Iran (Sabzevar) in 2021

Hossein Elyasi^{1*}, Rahim Golmohammadi²

1. Assistant Professor of Medical Parasitology, School of Medicine and Leishmaniasis Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran
2. Professor of Anatomical Sciences, School of Medicine and Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Received: 2025/03/05

Accepted: 2025/05/04

Abstract

Introduction: Aflatoxin B1 is a common contaminant in animal feed and has the highest acute and chronic toxicity among mycotoxins. In various studies, the adverse effect of aflatoxin B1 on animal health and, consequently, human health has been proven; therefore, determining the concentration of aflatoxin B1 in animal feed is essential. For this purpose, and given the lack of research in this field in this area, this study was designed and implemented to study the concentration of this toxin in animal feed in dairy farms around Sabzevar.

Materials and Methods: There are about 360 dairy farms around Sabzevar city, which we divided into two groups of large (industrial) and small (traditional) dairy farms for sampling. According to the frequency of each group, a number of samples were randomly selected from each group and samples were taken from their animal feed storage from different food groups (concentrate, dry bread and dry fodder) and after drying and pulverizing, the test was performed using the ELISA method.

Results: The results of this study showed that all concentrate, fodder, and dry bread samples collected from traditional and industrial dairy farms were contaminated, and the average concentration of aflatoxin B1 in the samples was 14.01 micrograms per kilogram, and the contamination level of all of them was higher than the permissible limit of the Iranian national standard (5 µg/kg).

Conclusion: Given the high aflatoxin B1 contamination in animal feed in Sabzevar dairy farms, it is necessary for health institutions to have more careful monitoring and supervision of animal feed.

***Corresponding Author:** Hossein Elyasi

Address: School of Medicine and Leishmaniasis Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Tel: +989153084119

E-mail: helyasi2005@yahoo.com

Keywords: Aspergillus, Aflatoxin B1, Animal Feed, ELISA

How to cite this article: Elyasi H, Golmohammadi R. Assessment of the level of contamination with Aflatoxin B1 in Animal Feed in the Northeast of Iran (Sabzevar) in 2021, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2024; 32(3):313-322. DOI: 10.30468/jsums.2025.8021.3206.

Introduction

Mycotoxins are estrogenic secondary metabolites that are highly toxic, carcinogenic and mutagenic to animal and human body cells. They are naturally produced under suitable physical, chemical and biological conditions and generally by fungi belonging to the three genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. They are produced in grains and forages collected from livestock farms before harvest, during and after harvest, and during storage and drying of products under various environmental and public health conditions. Food security and the national economy of many countries, especially developing countries, have been affected. Among Mycotoxins, Aflatoxins are of greater importance due to their potential carcinogenic, mutagenic and mutagenic effects and are effective in causing liver cancer, chronic hepatitis and liver cirrhosis. Three species of *Aspergillus*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus parasiticus*, and *Aspergillus numius* species, produce Aflatoxins. Aflatoxin B1 is a carcinogenic metabolite produced by certain species of *Aspergillus* on agricultural crops. Aflatoxins M1 and M2 are produced in animals from the hydroxylated metabolites of aflatoxins B1 and B2 and are found in animal products such as meat and milk. Of all the Aflatoxins, Aflatoxin B1 is the most toxic metabolite and has been classified as a Group A carcinogen by the International Agency for Research on Cancer. Aflatoxin B1 can affect animals through the consumption of contaminated food or feed, affecting their health and sometimes causing death. For example, Aflatoxin B1 suppresses the immune system and reduces their production. Humans are indirectly exposed to Aflatoxin B1 through the consumption of contaminated animal products such as eggs, meat, and milk. Aflatoxin B1 in humans causes liver cancer and disorders. This toxin is known to be a liver carcinogen and can act synergistically with hepatitis B or C viral infections to cause liver cancer. This toxin is strongly associated with immunosuppression, increased susceptibility to disease, growth retardation, and marked short stature. Reports indicate that long-term exposure to Aflatoxin causes infertility and abortion and begins to affect egg production in birds.

The maximum permissible levels for Aflatoxins are set in parts per billion (ppb) for foods and feeds in many countries and organizations, such as Iran. The Iranian National Standards Organization

(INSO) has set the permissible limit for AFB1 at 15 µg/kg and for total Aflatoxins at 50 µg/kg in cottonseed meal and for AFB1 at 5 µg/kg and for total Aflatoxins at 20 µg/kg in other animal feeds.

Aflatoxins are widespread in animal feeds and food products in most parts of the world and cause huge financial and human losses. However, in a more recent assessment, Yang et al. (2019) reported a lower incidence level (0.87%) of Aflatoxin B1 in maize. Another study by Anjam et al. was conducted in Pakistan in 2012 on 487 animal feed samples. The mean Aflatoxin B1 contamination was 26 PPB and the maximum was 39 PPB in corn gluten meal samples. In a study conducted by Mazaheri and Mahmoudi in 2018 on animal feed imported from other countries to Iran, 44.2% of them were contaminated with aflatoxin and 3.7% of them had aflatoxin concentrations higher than the Iranian standard concentration. Given the importance of the issue in terms of physical and mental health of individuals and the high consumption of dairy products, including milk, in the people of Sabzevar County, a study was conducted to determine the concentration of Aflatoxin B1 in dry concentrate, fodder, and bread collected from traditional and industrial dairy farms in Sabzevar County in Iran, given that no study in this field has been conducted in Sabzevar County.

Methodology

Sampling

Sample size determination: According to previous studies and considering $z = 1.96$ and with an error of 6 in the Cochran formula, the sample size was determined as 86. There are about 360 dairy farms around Sabzevar city, which we divided into two groups of large (industrial) dairy farms and small (traditional) dairy farms for sampling. Considering the frequency of each group, a number of animals were randomly selected from each group and their livestock feed inventory from different food groups (concentrate, dry bread and dry fodder) was sampled and collected from traditional and industrial dairy farms. After randomly selecting the dairy farm, about 150 grams of each food group were taken after mixing and mixing the bottom and top of the feed and placed in a nylon bag and sent to the laboratory as soon as possible and prepared for

testing. The collected samples were ground after drying and passed through a 10-mesh sieve.

ELISA test

For the measurement of Aflatoxin B1, an ELISA kit (R-Biofarm, Germany) was used, and the samples were extracted and prepared according to the instructions of the kit. In such a way that after mixing the samples completely, 5 grams of each sample were weighed and 25 µl of 70% methanol was added to it and stirred with a shaker for 10 minutes, and the rest of the parts were removed from it. They were passed, and 900 µl of normal saline was added to 100 µl of the obtained extract for dilution. The next step included loading the sample extracts into the wells of the ELISA plate. In this way, 40 µl of each extract prepared in duplicate was added to the wells. In addition, 50 µL of Aflatoxin B1 standard solution with concentrations of 0, 0.5, 1.5, 4.5, 13.5, and 40 µg/kg were added to the ELISA plate wells in duplicate. Then, 50 µL of conjugated enzyme was added to each well, and immediately after that, 50 µL of antibody was added to each well and mixed thoroughly. The plates were then placed in the dark at room temperature for 30 minutes, and then the liquid in the well was discarded. To ensure complete removal of the liquid from the well, the ELISA plate was inverted several times and vigorously turned over on absorbent paper. Then, all the wells were filled with 250 µL of distilled water and emptied again in the same manner. The washing step was repeated three times, and then 50 µL of the substrate and 50 µL of the chromogenic agent were added to each well, mixed thoroughly, and left for 30 minutes. The chamber is adjusted, then 100 µl of the reaction suspension is added to each well and mixed, and finally their absorbance at 450 nm is measured by the ELISA reader.

Results

In this study, 84 food samples were finally examined. In this way, our samples were divided

into 6 groups of 14. The groups included concentrate from traditional and industrial dairy farms, dry fodder collected from traditional and industrial dairy farms, and finally dry bread collected from traditional and industrial dairy farms. The results of the Aflatoxin B1 concentration in dry concentrate, fodder, and bread from traditional and industrial dairy farms are presented in Tables 1 and 2. The average concentration of Aflatoxin B1 in the concentrate collected from traditional dairy farms was 14.4 ± 2.4 µg/kg. The average concentration of Aflatoxin B1 in concentrate collected from industrial dairy farms of the studied samples was 15.39 ± 3 µg/kg.

Discussion

The results of our study showed that all dry concentrate samples collected from traditional and industrial dairy farms were contaminated, and the contamination levels of all of them were higher than the permissible limit of the Iranian national standard (5 µg/kg).

Conclusion

The results of this study demonstrated that all concentrate, fodder and dry bread samples collected from traditional and industrial cattle farms were contaminated and the average concentration of Aflatoxin B1 in the samples was 14.01 µg/kg. It is recommended that relevant departments, including health, veterinary, and agriculture, have inspection and monitoring programs to control the level of aflatoxin B1 contamination in livestock feed in the region.

Acknowledgment

The authors of the article express their gratitude to the honorable vice president of research for the financial support of this project.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors of the article.

ارزیابی میزان آلودگی خوراک دام به آفلاتوکسین B1: در شمال شرق ایران (سبزوار) در سال ۱۴۰۰

حسین الیاسی^{۱*}، رحیم گل محمدی^۲

۱. استادیار انگل شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
۲. استاد علوم تشریحی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین B1 یک آلاینده رایج در خوراک دام است و بیشترین سمیت حاد و مزمن را در بین مایکوتوکسین‌ها دارد. در مطالعات مختلف، اثر جانبی آفلاتوکسین B1 بر سلامت دام و در نتیجه سلامت انسان به اثبات رسیده است، بنابراین تعیین غلظت آفلاتوکسین B1 در خوراک دام ضروری است به همین منظور و با توجه به فقدان تحقیقاتی در این زمینه در این منطقه، این بررسی طراح و اجرا شد تا غلظت این سم را در خوراک دام گاوداری‌های اطراف سبزوار مطالعه نماییم.

مواد و روش‌ها: در حدود ۳۶۰ گاوداری در اطراف شهر سبزوار وجود دارد که ما برای نمونه‌برداری آن‌ها را به دو گروه گاوداری‌های بزرگ (صنعتی) و کوچک (سنتی) تقسیم‌بندی کردیم و متناسب با فراوانی هر گروه تعدادی را به صورت تصادفی از هر گروه انتخاب و از انبار خوراک دام آن‌ها از گروه‌های مختلف مواد غذایی (کنسانتره، نان خشک و علوفه خشک)، نمونه‌گیری انجام و بعد از خشک و پودر کردن به روش الیزا آزمایش انجام شد.

یافته‌ها: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمامی نمونه‌های کنسانتره، علوفه و نان خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی و صنعتی آلوده بودند و میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در نمونه‌ها ۱۴/۰۱ میکروگرم در کیلوگرم و سطح آلودگی همه آن‌ها بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (۵ μg/kg) بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به آلودگی بالای آفلاتوکسین B1 در خوراک دام‌های گاوداری‌های سبزوار، لازم است نهادهای بهداشتی نظارت دقیق‌تری از نظر خوراک دام داشته باشند.

* نویسنده مسئول: حسین

الیاسی

نشانی: دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
تلفن: +۹۸۹۱۵۳۰۸۴۱۱۹

رایانامه:

helyasi2005@yahoo.com

شناسه ORCID:

0000-0002-4624-5148

نویسنده اول: ORCID شناسه

0000-0002-4624-5148

DOI:
10.30468/jsums.2025.8021.
3206

کلیدواژه‌ها:

آسپرژیلوس، آفلاتوکسین B1، الیزا، خوراک دام

۱. مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه استروژنی هستند که برای سلول‌های بدن حیوانات و انسان بسیار سمی، سرطان‌زا و جهش‌زا هستند. آن‌ها به‌طور طبیعی در شرایط مناسب فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی و عموماً توسط قارچ‌های متعلق به سه جنس آسپرژیلوس، پنی سیلیوم و فوزاریوم و در غلات

و علوفه جمع‌آوری شده از گاوداری‌ها قبل از برداشت، در حین و پس از برداشت و در هنگام ذخیره‌سازی خشک کردن محصولات در شرایط مختلف محیطی و بهداشت عمومی تولید می‌شوند (۱، ۲). امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها، به‌ویژه کشورهای در حال توسعه، تحت تأثیر قرار گرفته

آفلاتوکسین ها در خوراک دام و فرآورده های غذایی در اکثر نقاط جهان گسترده است و خسارات مالی و جانی هنگفتی به بار می آورد (۱۶). باین حال، در یک ارزیابی جدیدتر، یانگ و همکاران. (۲۰۱۹) سطح بروز کمتر (۰.۸۷٪) آفلاتوکسین B1 را در ذرت گزارش کرد (۱۷). مطالعه دیگری توسط Anjam و همکاران. در سال ۲۰۱۲ در پاکستان بر روی ۴۸۷ نمونه خوراک دام انجام شد. میانگین آلودگی به آفلاتوکسین B1 26 ppb و حداکثر 39 ppb در نمونه های کنجاله گلوتن ذرت بود (۱۸). در تحقیقی که مظاهری و محمودی در سال ۱۳۹۷ بر روی خوراک دام وارداتی از کشورهای دیگر به ایران انجام دادند، ۴۴/۲ درصد آن ها آلوده به آفلاتوکسین و ۳/۷ درصد از آن ها دارای غلظت آفلاتوکسین بالاتر از غلظت استاندارد ایران بودند (۱۹). با توجه به اهمیت موضوع از نظر سلامت جسمی و روانی افراد و لبنیات پرمصرف از جمله شیر در مردم شهرستان سبزوار، مطالعه ای به منظور تعیین غلظت آفلاتوکسین B1 در کنسانتره خشک، علوفه انجام شد. و نان جمع آوری شده از گاوداری های سنتی و صنعتی شهرستان سبزوار در ایران با توجه به اینکه مطالعه ای در این زمینه در شهرستان سبزوار انجام نشده است.

۲. مواد و روش

۲.۱. نمونه برداری

تعیین حجم نمونه: با توجه به مطالعات قبلی (۲۰) و با در نظر گرفتن $Z=1.96$ و با خطای ۱٪ در فرمول کوکران، حجم نمونه ۸۶ تعیین شد حدود ۳۶۰ گاوداری در اطراف شهر سبزوار وجود دارد که برای نمونه گیری آن ها را به دو گروه گاوداری بزرگ (صنعتی) و گاوداری کوچک (سنتی) تقسیم کردیم. با توجه به فراوانی هر گروه، از هر گروه تعدادی به صورت تصادفی انتخاب و موجودی خوراک دام آن ها از گروه های غذایی مختلف (کنسانتره، نان خشک و علوفه خشک) نمونه برداری و از گاوداری های سنتی و صنعتی جمع آوری شد. پس از انتخاب تصادفی گاوداری، از هر یک از گروه های غذایی، پس از مخلوط کردن و مخلوط کردن ته و روی خوراک، حدود ۱۵۰ گرم از آن را برداشته و در کیسه نایلونی قرار داده و در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال و برای آزمایش آماده شد. نمونه های جمع آوری شده پس از خشک شدن آسیاب شده و از الک ۱۰ مش عبور داده شدند.

۲-۲. آزمون الایزا

برای اندازه گیری آفلاتوکسین B1 از کیت الایزا (R-

است (۳، ۴). در میان میکوتوکسین ها، آفلاتوکسین ها به دلیل اثرات بالقوه سرطان زا، جهش زا و جهش زا از اهمیت بیشتری برخوردارند و در ایجاد سرطان کبد، هپاتیت مزمن و سیروز کبدی مؤثر هستند (۳). سه گونه آسپرژیلوس به نام های آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و گونه های آسپرژیلوس نومیوس آفلاتوکسین تولید می کنند (۵). آفلاتوکسین B1 یک متابولیت سرطان زا است که توسط گونه های خاصی از آسپرژیلوس بر روی محصولات کشاورزی تولید می شود (۶).

آفلاتوکسین M1 و M2 از متابولیت های هیدروکسیله آفلاتوکسین های B1 و B2 در بدن حیوانات تولید می شود و در محصولات حیوانی مانند گوشت و شیر یافت می شود (۷). در بین تمام آفلاتوکسین ها، آفلاتوکسین B1 سمی ترین متابولیت است و توسط آژانس بین المللی تحقیقات سرطان به عنوان یک ترکیب سرطان زا در گروه A طبقه بندی شده است (۸). آفلاتوکسین B1 می تواند حیوانات را از طریق مصرف غذا یا علوفه آلوده تحت تأثیر قرار دهد و بر سلامت آن ها تأثیر بگذارد و گاهی باعث مرگ آن ها شود (۹). به عنوان مثال، آفلاتوکسین B1 سیستم ایمنی را سرکوب می کند و محصولات تولیدی آن ها را کاهش می دهد (۱۰). انسان با مصرف محصولات حیوانی آلوده مانند تخم مرغ، گوشت و شیر به طور غیرمستقیم تحت تأثیر آفلاتوکسین B1 قرار می گیرد (۷). آفلاتوکسین B1 در بدن انسان باعث سرطان کبد و ایجاد اختلالات می شود (۱۱). این سم به عنوان سرطان زای کبد شناخته می شود و می تواند نقش هم افزایی با عفونت های ویروسی هپاتیت B یا C داشته باشد که منجر به سرطان کبد می شود (۱۲). این سم به شدت با سرکوب سیستم ایمنی، افزایش حساسیت به بیماری، کاهش رشد و کوتاهی قد برجسته مرتبط است (۱۳). گزارش ها نشان می دهد که قرار گرفتن طولانی مدت در معرض آفلاتوکسین باعث ناباروری و سقط جنین می شود و شروع به تأثیر بر تولید تخم در پرندگان می کند (۱۴).

حداکثر مجاز برای آفلاتوکسین ها به صورت قسمت در میلیارد (ppb) یا میکروگرم بر کیلوگرم برای غذاها و خوراک ها در بسیاری از کشورها و سازمان ها مانند ایران تعیین شده است. بر اساس استاندارد FDA آمریکا و نیز استاندارد کدکس الیمنتاریوس حداکثر مجاز باقیمانده آفلاتوکسین M1 در شیر ۵ ppb و آفلاتوکسین B1 در خوراک دام ۵ ppb است (۱۵).

به همین ترتیب تخلیه شدند. مرحله شستشو سه بار تکرار و سپس ۵۰ میکرولیتر از بستر و ۵۰ میکرولیتر ماده کرومونیکی به هر چاهک اضافه شد، کاملاً مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه باقی ماند. اتاق تنظیم می‌شود، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون واکنش به هر چاهک اضافه و مخلوط می‌شود و در نهایت جذب آن‌ها در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه خواندن الیزا اندازه‌گیری شد.

۳. یافته‌ها

در پژوهش حاضر نهایتاً ۸۴ نمونه غذا مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب نمونه‌های پژوهش به ۶ گروه ۱۴ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل کنسانتره از گاوداری‌های سنتی و صنعتی، علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی و صنعتی و در نهایت نان خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی و صنعتی بود. نتایج غلظت آفاتوکسین B1 در کنسانتره خشک، علوفه و نان گاوداری‌های سنتی و صنعتی در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. میانگین غلظت آفاتوکسین B1 در کنسانتره جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی $14/4 \pm 2/4$ میکروگرم در کیلوگرم بود. میانگین غلظت آفاتوکسین B1 در کنسانتره جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی نمونه‌های مورد مطالعه $15/39 \pm 3$ $\mu\text{g/kg}$ بود.

Biofarm، آلمان) استفاده گردید و نمونه‌ها بر اساس دستورالعمل‌های مربوط به کیت استخراج و آماده شدند. به این ترتیب که پس از مخلوط کردن کامل نمونه‌ها، مقدار ۵ گرم از هر نمونه توزین شد و ۲۵ میکرولیتر متانول ۷۰ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با شیکر به هم زد و بقیه قسمت‌ها از آن حذف شدند. آن‌ها را پاس داده و ۹۰۰ میکرولیتر نرمال سالین برای رقیق‌سازی به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به دست آمده اضافه شد. مرحله بعدی شامل بارگذاری عصاره نمونه‌ها در چاهک‌های صفحه الیزا بود. به این ترتیب مقدار ۴۰ میکرولیتر از هر عصاره تهیه شده در دو تکرار به چاهک‌ها اضافه شد. علاوه بر آن، ۵۰ میکرولیتر محلول استاندارد آفاتوکسین B1 با غلظت‌های ۰، ۰.۵، ۱.۵، ۴.۵، ۱۳.۵ و ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم نیز در دو تکرار به چاهک‌های پلیت ELISA اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر آنزیم مزدوج به هر چاهک اضافه و بلافاصله پس از آن ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بادی به هر چاهک اضافه و کاملاً مخلوط شد. در ادامه صفحات به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفتند و سپس مایع داخل چاه دور ریخته شد. برای اطمینان از خروج کامل مایع از داخل چاه، صفحه الیزا چندین بار وارونه و به شدت روی کاغذ جاذب برگردانده شد. سپس تمامی چاه‌ها با ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر پر شده و مجدداً

جدول ۱. غلظت آفاتوکسین B1 بین گروه‌های مختلف خوراک دام شامل: نان خشک، کنسانتره و علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی ($\mu\text{g/kg}$)

نوع خوراک دام	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	P value
کنسانتره خشک	۱۴/۴	۲/۴	۸/۱۹	۱۹/۵	p>0.005
علوفه خشک	۱۳/۸	۳/۰۳	۹/۱۵	۲۱/۹	
نان خشک	۱۲/۸۵	۲/۷۳	۵/۸۳	۱۵/۹۱	

جدول ۲. غلظت آفاتوکسین B1 بین گروه‌های مختلف خوراک دام شامل: نان خشک، کنسانتره و علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی ($\mu\text{g/kg}$)

نوع خوراک دام	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	P value
کنسانتره خشک	۱۵/۳۹	۳/۵	۱۱/۶۹	۲۳/۳۶	p>0.005
علوفه خشک	۱۴/۱۵	۱/۷۴	۱۱/۴۵	۱۸/۹۷	
نان خشک	۱۳/۹۶	۳/۴۱	۹/۹۳	۲۲/۵۳	

جدول ۳. غلظت آفاتوکسین B1 در خوراک دام جمع‌آوری شده از دامداری‌های سنتی و صنعتی ($\mu\text{g/kg}$)

نوع گاوداری	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	P value
سنتی	۱۳/۶	۲/۷۲	۵/۸۳	۲۱/۹	p>0.005
صنعتی	۱۴/۵	۲/۹۹	۹/۹۳	۲۳/۳۶	

۴. بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج پژوهش حاضر تمامی نمونه‌های کنسانتره خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی و صنعتی آلوده بوده و میزان آلودگی همه آن‌ها بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران ($5 \mu\text{g/kg}$) بوده است. میزان آلودگی در کنسانتره جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی بیشتر از کنسانتره جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی بود. بین میزان آلودگی آفلاتوکسین B1 در کنسانتره جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی و صنعتی تفاوت وجود دارد، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P = 0/278$). میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی 13.83 ± 3.03 و میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی مورد مطالعه $3/41 \pm 13/96$ است. این نشان می‌دهد که میزان آلودگی علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی بیشتر از علوفه خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی است، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P = 0/917$). میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در نان خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی $2/73 \pm 12/85$ نانوگرم بر گرم و میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در نان خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی در نمونه مورد مطالعه $1/74 \pm 14/15$ بود. اعلام می‌کند که میزان آلودگی نان خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های صنعتی بیشتر از نان خشک جمع‌آوری شده از گاوداری‌های سنتی است، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P = 0/145$). نتایج تحقیق ما نشان داد که تمامی نمونه‌های نان خشک گاوداری‌های سنتی و صنعتی آلوده بوده و میزان آلودگی همه آن‌ها بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بوده است.

جمالی و معینی (۱۳۸۸) وضعیت آلودگی به آفلاتوکسین را در اقلام خوراک دام گاوداری‌ها (کوچک، متوسط و بزرگ) در استان کرمانشاه بررسی کردند و نتایج نشان داد که آلودگی نمونه‌های یونجه و ذرت در گاوداری‌های کوچک شیوع بیشتری دارد. مهم‌ترین دلیل آن مدیریت گاوداری‌ها است. به‌ویژه نحوه نگهداری و نگهداری علوفه جمع‌آوری شده از گاوداری‌ها حائز اهمیت است (۲۱). در مطالعه‌ای که توسط کوتیناگو و همکاران انجام شد، ۹۷ نمونه از خوراک دام در تلانگانا، آندرا پرادش، هند به روش HPLC آنالیز شد و مشاهده شد که ۳۳ درصد از آن‌ها به آفلاتوکسین B1 آلوده بودند

(۲۲).

ارسالی و همکاران (۱۳۸۷) با هدف بررسی انتقال آفلاتوکسین از خوراک دام به شیر دام و شیر پاستوریزه در شهر شیراز و حومه مطالعه‌ای انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که در ۴۳/۳۶ درصد از نمونه‌های خوراک دام، میزان آلودگی بالاتر از حد مجاز آفلاتوکسین B1 یعنی ۲۰ پی پی ام بوده است. در ۳۸/۰۳ درصد از نمونه‌های شیر خام و ۱۴/۴۲ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه، میزان آلودگی بالاتر از حد مجاز یعنی ۵/۰ ppb بود. این تحقیق نشان می‌دهد که بین آلودگی شیر خام و آلودگی خوراک دام ارتباط وجود دارد. همچنین ۱۵/۷۸ درصد، ۵۶/۲۵ درصد، ۷۵ درصد و ۳۳/۳۳ درصد از نمونه‌های خوراک دام آزمایش شده در بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب آلودگی بالاتر از حد مجاز را نشان دادند (۲۳).

طبق مطالعه‌ای که توسط معصومه مهربان سنگ و همکاران (۲۰) به منظور بررسی آفلاتوکسین B1 در اقلام مختلف خوراک دام گاوداری‌های استان خراسان رضوی انجام شد مشاهده شد که ۲۱/۸۷ درصد نمونه‌ها میزان سم بیشتر از حد مجاز داشتند. در همه این تحقیقات آلودگی به آفلاتوکسین با درصد‌های متفاوت گزارش شده است و برخلاف تحقیق ما میزان آلودگی در هیچ کدام صد در صد نبوده است و احتمالاً در بررسی ما حساسیت کیت بالاتر بوده است یا شرایط نگهداری خوراک دام شرایط نامناسب تری داشته است. اختلاف در میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در گروه‌های مختلف خوراک دام و همچنین در نوع دامداری (سنتی، صنعتی) وجود داشت ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.005$). یک مقدار جزئی غلظت سم در خوراک دام گاوداری‌های صنعتی نسبت به سنتی بیشتر بود که احتمالاً به علت ماندگاری بیشتر خوراک دام در انبارهای علوفه واحدهای صنعتی است (Z-test).

در مطالعه رحیمی و همکاران (۲۴) وجود آفلاتوکسین B1 در ۱۰۸ نمونه از خوراک دام شامل یونجه خشک، ذرت، سیلوی ذرت، کنجاله تخم پنبه، جو و سبوس گندم که از مزارع پرورش گاو شیری استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد به وسیله روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت. سطح آفلاتوکسین B1 در ۱۹ نمونه (۱۷/۶ درصد) از ۱۰۸ نمونه مورد مطالعه، بیشتر از حد مجاز بود. ارزیابی آماری نشان داد که میانگین سطح آلودگی در نمونه‌های زمستان بیشتر از

نمونه‌های تابستان است ($p=0.008$).

در یک بررسی که توسط شهین عشقی و همکاران انجام شد نمونه‌های تصادفی از نمونه‌های کاملاً مخلوط ۲۰ گاوداری صنعتی و ۲۰ گاوداری نیمه‌صنعتی از دامداری‌های استان قزوین به روش الایزای رقابتی موردبررسی قرار گرفت. میزان آفلاتوکسین ب ۱ در ۵ درصد از خوراک مصرفی گاوداری‌های صنعتی و ۱۵ درصد گاوداری‌های نیمه‌صنعتی دارای مقادیر بالاتر از حد مجاز بود (۲۵).

در مطالعه‌ای دیگر که توسط شادیه محمدی و همکاران انجام گرفت، میزان آلودگی خوراک طیور به آفلاتوکسین ب ۱ در شهر سمنان را موردبررسی قرار دادند. در این مطالعه جهت پی بردن به میزان آلودگی خوراک طیور به آفلاتوکسین B1 تعداد ۴۵ نمونه خوراک به روش تصادفی ساده در فصول پاییز و زمستان ۱۳۹۷ جمع‌آوری نمونه‌ها به روش الایزا مورد آزمایش قرار دادند.

میزان آلودگی در ۴۶/۶۶ درصد از نمونه‌ها بیشتر از حد استاندارد گزارش شد. به دلیل دمای بالاتر و شرایط محیطی مناسب جهت رشد قارچ‌ها، نمونه‌های تهیه‌شده در فصل پاییز نسبت به فصل زمستان آلودگی بیشتری داشتند (۲۶).

نتایج مطالعه فوق نشان داد که تمامی نمونه‌های کنسانتره، علوفه و نان خشک جمع‌آوری‌شده از گاوداری‌های سنتی و صنعتی آلوده بوده و میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در نمونه‌ها ۱۴/۰۱ میکروگرم در کیلو گرم بود. میزان آلودگی همه آن‌ها بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بود. با توجه به آلودگی بالای آفلاتوکسین B1 در خوراک دام گاوداری‌های سبزوار، لازم است نهادهای بهداشتی نظارت و نظارت دقیق‌تری از نظر خوراک دام داشته باشند. علاوه بر این، به دلیل محدودیت‌ها، نمی‌توانیم از تعداد نمونه‌های بیشتر، روش

جدیدتری مانند روش HPLC استفاده کنیم و مطالعه را در مدت زمان طولانی‌تری برای مقایسه میزان آلودگی انواع علوفه در فصول مختلف انجام دهیم. توصیه می‌شود که این جنبه‌ها در مطالعات آتی موردتوجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی به دلیل حمایت مالی از این طرح قدردانی می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله از پایان‌نامه مقطع پزشکی عمومی و با کد اخلاق: IR.MEDSAB.REC.1398.096 است.

سهم نویسندگان

نویسنده اول: ایده، نوشتن پروپوزال، تدوین و ویرایش مقاله، نمونه‌گیری و جمع‌آوری داده‌ها

نویسنده دوم: تحلیل و آنالیز داده‌ها

همچنین تمامی نویسندگان نسخه نهایی را خوانده و صحت آن را تأیید کرده‌اند.

حمایت مالی

این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار انجام شده است.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان مقاله وجود ندارد.

References

- [1]. Zheng MZ, Richard JL, Binder J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*. 2006 May;161(5):261-73. doi: 10.1007/s11046-006-0215-6. PMID: 16649076.
- [2]. Haubruge, Eric, Camille Chasseur, Carl Suetens, Françoise Mathieu, Françoise Begaux, and François Malaisse. "Mycotoxins in Stored Barley (*Hordeum Vulgare*) in Tibet Autonomous Region (People's Republic of China)." *Mountain Research and Development* 23, no. 3 (2003): 284-87. <http://www.jstor.org/stable/3674613>.
- [3]. Agag, B.I. (2004) Mycotoxins in foods and feeds 1-aflatoxins. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.* 7, 173-205. http://www.aun.edu.eg/env_enc/env%20mar/173-206.PDF
- [4]. Hasan Yazdanpanah. Mycotoxin Contamination of Foodstuffs and Feedstuffs in Iran. 5(1):e128257. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.647>.
- [5]. Kumari AKC and P. Management of Mycotoxin Contamination in Preharvest and Post Harvest Crops: Present Status and Future Prospects. *jp [Internet]*. 2010 Nov. 30 [cited 2025 Mar. 11];2(7). Available from: <https://updatepublishing.com/journal/index.php/jp/article/view/2160>
- [6]. Meimaroglou DM, Galanopoulou D, Markaki P. Study of the Effect of Methyl Jasmonate Concentration on Aflatoxin B(1) Biosynthesis by *Aspergillus parasiticus* in Yeast Extract Sucrose Medium. *Int J Microbiol.* 2009;2009:842626. doi: 10.1155/2009/842626. Epub 2009 Dec 6. PMID: 20016812; PMID: PMC2789378.
- [7]. Xiong J, Xiong Lili, Hualin Zhou, Liu Yulan and Lingying Wu. "Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feedstuff and aflatoxin M1 in UHT and pasteurized milk in central China." *Food Control* 2018; n. pag. DOI:10.1016/J.FOODCONT.2018.05.022 Corpus ID: 89658564

- [8]. Bonzini M, Battaglia P, Parassoni D, Casa M, Facchinetti N, Turri-Zanoni M, Borchini R, Castelnovo P, Ferrario MM. Prevalence of occupational hazards in patients with different types of epithelial sinonasal cancers. *Rhinology*. 2013 Mar;51(1):31-6. doi: 10.4193/Rhino11.228. PMID: 23441309.
- [9]. Stoev SD. Foodborne mycotoxins, risk assessment and underestimated hazard of masked mycotoxins and joint mycotoxin effects or interaction. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015 Mar;39(2):794-809. doi: 10.1016/j.etap.2015.01.022. Epub 2015 Feb 7. PMID: 25734690.
- [10]. Streit E, Schatzmayr G, Tassis P, Tzika E, Marin D, Taranu I, Tabuc C, Nicolau A, Aprodu I, Puel O, Oswald IP. Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed-focus on Europe. *Toxins (Basel)*. 2012 Oct;4(10):788-809. doi: 10.3390/toxins4100788. Epub 2012 Oct 1. PMID: 23162698; PMCID: PMC3496989.
- [11]. Smith LE, Prendergast AJ, Turner PC, Mbuya MN, Mutasa K, Kembo G, Stoltzfus RJ; Sanitation Hygiene Infant Nutrition Efficacy (SHINE) Trial Team. The Potential Role of Mycotoxins as a Contributor to Stunting in the SHINE Trial. *Clin Infect Dis*. 2015 Dec 15;61 Suppl 7(Suppl 7):S733-7. doi: 10.1093/cid/civ849. PMID: 26602301; PMCID: PMC4657594.
- [12]. Lu JW, Yang WY, Lin YM, Jin SL, Yuh CH. Hepatitis B virus X antigen and aflatoxin B1 synergistically cause hepatitis, steatosis and liver hyperplasia in transgenic zebrafish. *Acta Histochem*. 2013 Sep;115(7):728-39. doi: 10.1016/j.acthis.2013.02.012. Epub 2013 Mar 15. PMID: 23499292.
- [13]. Gong YY, Watson S, Routledge MN. Aflatoxin Exposure and Associated Human Health Effects, a Review of Epidemiological Studies. *Food Saf (Tokyo)*. 2016 Mar 30;4(1):14-27. doi: 10.14252/foodsafetyfscj.2015026. PMID: 32231900; PMCID: PMC6989156.
- [14]. Fouad AM, Ruan D, El-Senousey HK, Chen W, Jiang S, Zheng C. Harmful Effects and Control Strategies of Aflatoxin B₁ Produced by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* Strains on Poultry: Review. *Toxins (Basel)*. 2019 Mar 23;11(3):176. doi: 10.3390/toxins11030176. PMID: 30909549; PMCID: PMC6468546.
- [15]. ISIRI (2010) Food & Feed-Mycotoxins-Maximum Tolerated level. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 5925 (Amendment No.1).
- [16]. Van der Fels-Klerx, H. J. Vermeulen, L. C. Gavai, A. K. Liu, C. (2019). Climate change impacts on aflatoxin B1 in maize and aflatoxin M1 in milk: A case study of maize grown in Eastern Europe and imported to the Netherlands. *PloS one*, 14: e0218956- e0218956
- [17]. Yang X, Gao J, Liu Q, Yang D. Co-occurrence of mycotoxins in maize and maize-derived food in China and estimation of dietary intake. *Food Addit Contam Part B Surveill*. 2019 Jun;12(2):124-134. doi: 10.1080/19393210.2019.1570976. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30689530.
- [18]. Anjum, M.A. Khan, S.H. Sahota, A.W. & Sardar, R. (2012). assessment of aflatoxin b1 in commercial poultry feed and feed ingredients. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22, 268-272. Corpus ID: 19857821
- [19]. Mazaheri M, Mahmoudi Maymand M. Investigation of Aflatoxins in Imported Animal Feeds in Iran. *IRANIAN JOURNAL OF TOXICOLOGY*[Internet]. 2018;12(6):33-38. Available from: <https://sid.ir/paper/324523/en>
- [20]. Mehraban Sangatash M, Mohsenzadeh M, Tajalli F, Karajian R et al. Evaluation of aflatoxin B1 levels in feedstuffs of dairy herds in Khorasan Razavi Province. *Animal Sciences Journal*, Volume:27 Issue: 103, 2014. from:<https://doi.org/10.22092/asj.2014.100260>
- [21]. Jamali Emam Ghedis, N. Moeini, M. Aflatoxin contamination occurrence in milk and feed in Kermanshah dairy farms by ELISA technique. *Veterinary Research & Biological Products*, 2010; 23(2): 25-31.
- [22]. Kotinagu K, Mohanamba T, Kumari LR. Assessment of aflatoxin B1 in livestock feed and feed ingredients by high-performance thin layer chromatography. *Vet World*. 2015 Dec;8(12):1396-9. doi: 10.14202/vetworld.2015.1396-1399. Epub 2015 Dec 17. PMID: 27047050; PMCID: PMC4774816.
- [23]. Ersali A, Grigoran K, Baho-Aldini F, Ghasemi R, Ersali M. Transition of Aflatoxin from Feedstuff to Animal Milk and Pasteurized Milk in Shiraz City and Suburbs (South Iran). *IJT* 2008; 2 (1):3-3 URL: <http://ijt.arakmu.ac.ir/article-1-78-en.html>
- [24]. Rahimi, E. Kargar, A.R. and Zamani, F. (2008). Assessment of aflatoxin B 1 levels in animal feed of dairy farms in Chaharmahal & Bakhtiari. *Pajouhsh & Sazandegi*, 79:66-71.
- [25]. Eshghi S, Salar-Amoli J, Mirzaei K. Evaluation of aflatoxin B1 levels in TMR and aflatoxin M1 levels in raw milk by ELISA and HPLC. *Journal of Veterinary Microbiology*, Volume 17, Issue 2, 2021 doi:10.30495/jvm.2022.1934731.1180
- [26]. Mohammadi S, Ghahremani E, Dehestaniathar S, Zandi S et al. Determination of aflatoxin B1 concentration in poultry feed in the poultry farms of Sanandaj using ELISA method. *SJKU* 2021;25(6):49-56